

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE AMINOSÄUREN
DES HARNSTOFFCYCLUS BEI LEBERERKRANKUNGEN

von

REGINA HOCHMILLER

Mainz 1966



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554405_0026

Aus der II. Medizinischen Universitäts-Klinik der
Johannes Gutenberg-Universität Mainz
Direktor: Professor Dr. Schölmerich

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE AMINOSÄUREN
DES HARNSTOFFCYCLUS BEI LEBERERKRANKUNGEN

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Hohen Medizinischen Fakultät

der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von

REGINA HOCHMILLER

aus Weinheim/Bergstr.

MAINZ 1966

Dekan:	Professor Dr. Borneff
Referent:	Priv. Doz. OA Dr. Gerok
Korreferent:	Professor Dr. Schölmerich
Tag der mündl. Prüfung:	18. November 1966



Gesamtherstellung:

Ditters Bürodienst Mainz

INHALTSVERZEICHNIS

I. Einleitung und Fragestellung

1. Ammoniakbildung und -entgiftung
2. Biochemie der Harnstoffsynthese
 - a) Umwandlung von Ornithin in Citrullin
 - b) Umwandlung von Citrullin in Arginin bzw. Harnstoff
3. Fragestellung

II. Methodik

Überprüfung der in der Literatur angegebenen Methoden auf ihre Eignung

1. Argininbestimmung nach Gilboe
2. Argininbestimmung nach Pilsum
3. Säulenchromatographische Bestimmung von Arginin, Citrullin, Ornithin
4. Statistische Methoden

III. Ergebnisse

1. Argininausscheidung im 24-Stunden-Urin
2. Argininkonzentration im Serum und Harnstoffausscheidung
3. Serumkonzentration von Citrullin, Ornithin und Arginin

IV. Diskussion

V. Zusammenfassung

VI. Literaturverzeichnis

I. EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG

1. Ammoniakbildung und -entgiftung

Untersuchungen der letzten Jahre haben gezeigt, daß die Erhöhung des Blutammoniaks für einige Symptome der Leberinsuffizienz, insbesondere für die Encephalopathie bei Lebererkrankungen von Bedeutung ist (VAN CAULAERT und DEVILLER; GABUDZDA, PHILIPS und DAVIDSON; PHEAR und Mitarb.).

Ammoniak entsteht im Stoffwechsel durch die Desaminierung der Aminosäuren und der Amine, sowie beim Abbau der Purinbasen (Adenin und Guanin). Es wird ferner im Darm unter Einwirkung von Bakterienenzymen gebildet (FOLIN und DENIS; PARNAS und KLISIECKI, CHOŁOPOFF; MARTINI und Mitarb.). Hierbei führen vor allem die Spaltung von Glutamin mit Hilfe der Glutaminase und die Spaltung von Harnstoff mit Urease zum enteralen Anstieg und zur vermehrten Resorption des Ammoniaks (KRONBERG und DAVIS; WALSER und BODENLOS).

Die Entgiftung des Ammoniaks kann auf verschiedenen Stoffwechselwegen erfolgen. Der wichtigste Weg ist die Harnstoffsynthese im Arginin-Citrullin-Ornithin-Cyclus (KREBS und HENSELEIT). Ein zweiter Weg der Entgiftung des Ammoniaks besteht in der Bindung von NH_3 an Glutaminsäure und Asparaginsäure, wobei die Säureamide (Glutamin und Asparagin) entstehen (Übersicht siehe WEIL und MALHERBE). Die Ausscheidung des Ammoniaks in Form der Säureamide tritt jedoch gegenüber der Harnstoffausscheidung zurück. Die Bedeutung der Säureamide liegt in der Transportfunktion für NH_3 vom Ort der Ammoniakbildung zum Ort der Ammoniakausscheidung. Ein dritter Stoffwechselweg, der aber ebenfalls quantitativ gegenüber der Harnstoffsynthese beim Menschen von untergeordneter Bedeutung ist, ist der Einbau von NH_3 in das Harnsäureskelett, wobei Glutamin- und Asparaginsäure als Vorstufe dienen. Ein Teil des im Stoffwechsel entstandenen Ammoniaks wird in Form von Ammoniumsalzen im Urin ausgeschieden.

(Über phylogenetische Aspekte der NH_3 -„Entgiftung“ siehe MEISTER). Entstehung und Entgiftung des Ammoniaks im Stoffwechsel des Menschen sind in Schema 1 zusammengestellt.

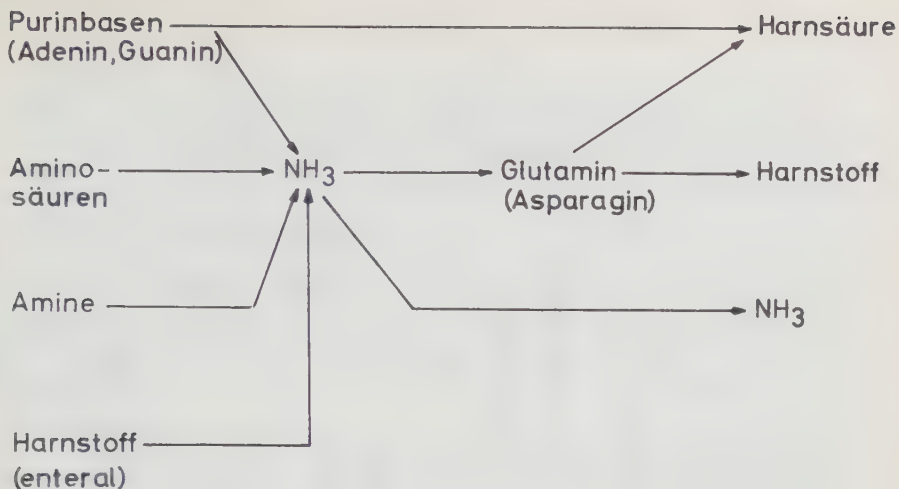
2. Biochemie der Harnstoffsynthese

Harnstoff kann mit Hilfe des Enzyms Arginase von der Aminosäure Arginin abgespalten werden. Aus Arginin entsteht dabei Ornithin (KOSSEL und DAKIN). Arginin enthält in seiner Guanidingruppe bereits das Harnstoffskelett, hingegen fehlt Ornithin diese N-C-N-Gruppe. Die eigentliche Synthese des Harnstoffs muß sich demnach in einer oder mehreren Stoffwechselreaktionen vollziehen, die von Ornithin zu Arginin führen.

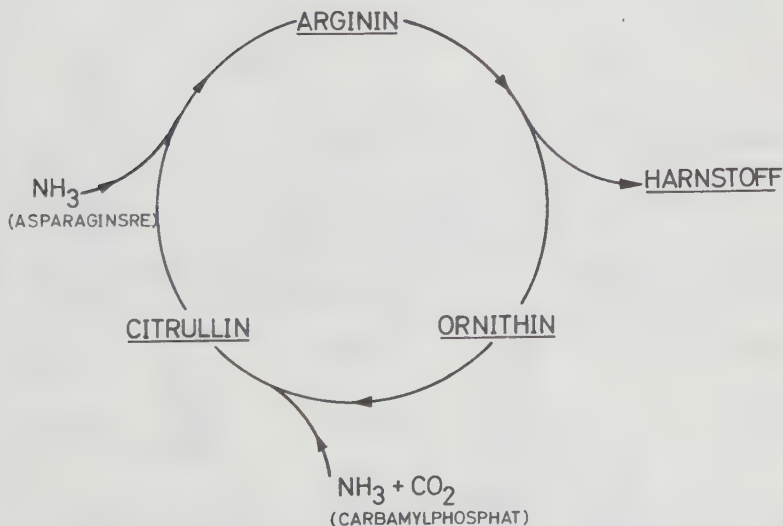
KREBS und HENSELEIT machten 1932 die Beobachtung, daß die Harnstoffbildung im Lebergewebe durch die Zugabe von Ornithin und Citrullin katalytisch, d.h. ohne Verbr uch dieser beiden Aminosäuren, beschleunigt wird. Sie folgerten hieraus, daß sich die Harnstoffsynthese in einem Reaktionscyclus vollzieht, an dem die Aminosäuren Arginin, Citrullin und Ornithin beteiligt sind. Spätere Versuche mit isotopenmarkierten Aminosäuren haben die Existenz des von KREBS und HENSELEIT postulierten Harnstoffcyclus bestätigt (SCHÖNHEIMER, FORSTER und Mitarb.). Die Harnstoffsynthese vollzieht sich demnach in drei Stufen: Bei der ersten wird die Einführung von NH_3 und CO_2 unter Abspaltung von H_2O aus Ornithin Citrullin gebildet; bei der zweiten entsteht aus Citrullin unter Einbau von NH_3 und unter H_2O -Abspaltung Arginin. Aus Arginin kann dann Harnstoff freigesetzt werden durch hydrolytische Spaltung mit Hilfe des Enzyms Arginase (Schema 2).

Im Gegensatz zur Arginasespaltung des Arginins sind die ersten beiden Stufen der Harnstoffsynthese an energieliefernde Reaktionen gekoppelt. Eine direkte Reaktion von NH_3 und CO_2 mit Ornithin (1.Stufe) und von NH_3 mit Citrullin (2.Stufe) ist aus Gründen der Thermodynamik unmöglich. Weitere Untersuchungen ergaben, daß folgende Metaboliten und Stoffwechselreaktionen die Umwandlung von Ornithin in Citrullin sowie von Citrullin in Arginin ermöglichen:

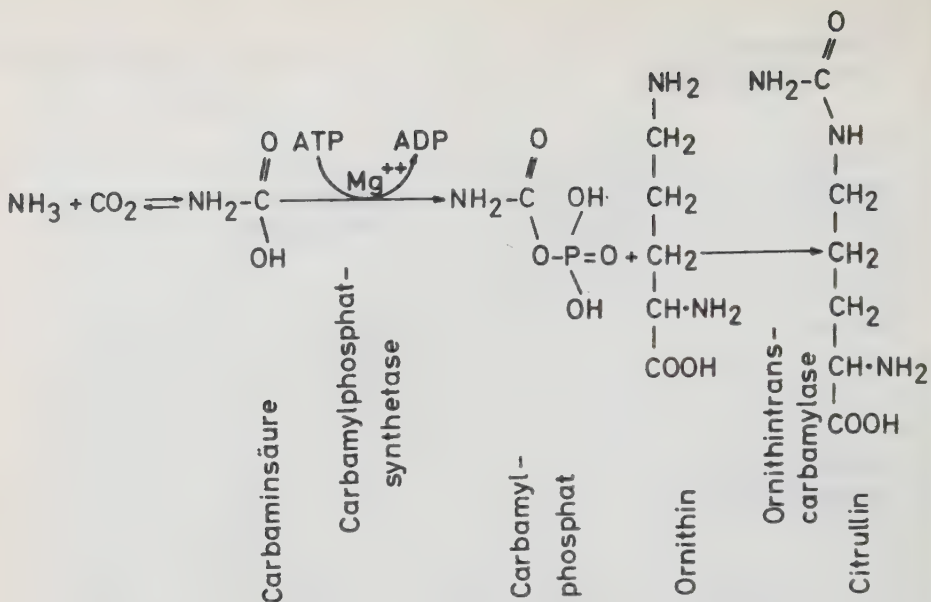
- a) die Umwandlung von Ornithin in Citrullin vollzieht sich in Leberhomogenaten (BORSOOK und DUBNOFF) in Gegenwart von ATP, Magnesiumionen, CO_2 , NH_3 und einem N-Acyl-Derivat von Glutaminsäure (COHEN und Mitarb.; GRISOLIA und Mitarb.; COHEN und HAYANO). Dabei entsteht zunächst Carbamylphosphat (GRISOLIA und COHEN; GRISOLIA und MARSHALL; JONES und Mitarb.), das mit Ornithin reagiert, wobei die energiereiche Phosphatbindung gespalten und aus Ornithin Citrullin gebildet wird. Die Bedeutung des N-Acyl-Derivates von Glutaminsäure bei dieser Reaktion ist noch ungeklärt (GRISOLIA und Mitarb.; REICHARD und Mitarb.; HALL und COHEN). (Schema 3)



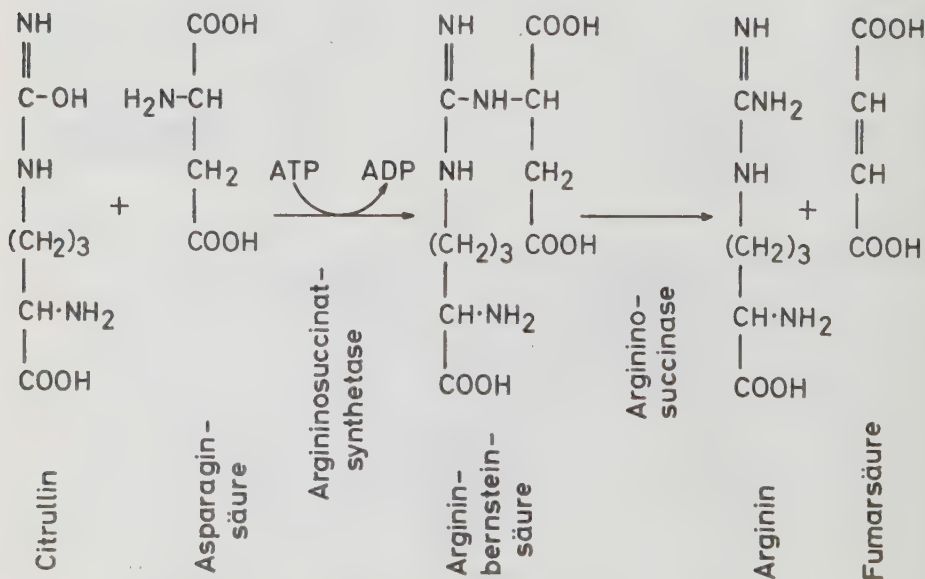
Schema 1: Stoffwechselwege des Ammoniaks



Schema 2: Vereinfachte Darstellung der Harnstoffsynthese



Schema 3: Einschleusung des Ammoniaks (1. Stufe) in den Harnstoffcyclus. Bildung von Citruillin aus Ornithin.



Schema 4: Einschleusung des Arginins (2. Stufe) in den Harnstoffcyclus. Bildung von Arginin aus Citruillin.

- b) Die Umwandlung von Citrullin in Arginin ist in Leber- und Nierenhomogenaten nachweisbar (BORSOOK und DUBNOFF; KREBS). Sie wird durch Asparaginsäure und Glutaminsäure beschleunigt und verbraucht ATP. Es bilden sich hierbei aus Citrullin und Asparaginsäure unter Einwirkung eines spezifischen Enzyms (Argininosuccinatsynthetase; "condensing enzyme") Argininbernsteinsäure. Diese Reaktion ist an die Gegenwart von energielieferndem ATP gebunden. Sekundär erfolgt dann, ebenfalls unter der Wirkung eines spezifischen Enzyms (Argininosuccinase; "cleaving enzyme") die Spaltung der Argininbernsteinsäure in Arginin und Fumarsäure (Übersicht siehe RATNER, DAVISON und ELLIOT). (Schema 4)

Von den an der Harnstoffsynthese beteiligten Enzymen ist die Arginase in vielen Organen nachweisbar. In der Leber ist sie in besonders hoher Aktivität enthalten. Ornithintranscarbamylase kommt wahrscheinlich nur in der Leber vor, Argininosuccinatsynthetase und Argininosuccinase wurden in der Säugetierleber und -niere, aber auch in Hefe und Mikroorganismen nachgewiesen. Die Organlokalisation der Harnstoffsynthese ist noch nicht eindeutig geklärt. MEISTER nimmt an, daß Citrullin aus Ornithin ausschließlich in der Leber gebildet wird. Die weitere Umwandlung von Citrullin in Arginin vollzieht sich überwiegend ebenfalls in der Leber, zum Teil aber auch in der Niere. Das in der Niere gebildete Arginin muß zur Arginasespaltung auf dem Blutwege wieder in die Leber gelangen.

Die Leber ist somit auf Grund ihrer Enzymausstattung für die Harnstoffsynthese von besonderer Bedeutung. Nach Ausschaltung der Leber durch partielle Hepatektomie oder Anlage einer Eck'schen Fistel ist dementsprechend die Harnstoffsynthese vermindert (BORNSTEIN; BORNSTEIN und ROESE; BOLLMAN und MANN; MASON). Für die Erhöhung der Harnstoffkonzentration im Blut bei krankhaften Veränderungen des Leberparenchyms (VAN CAULAERT; KIRK; STAHL u.a.) ist neben einer gesteigerten Ammoniakbildung im Darm eine verminderte Ammoniakentgiftung ursächlich von Bedeutung (Übersicht s. MARTINI).

3. Fragestellung

Durch die vorliegenden Untersuchungen sollte geprüft werden, ob bei bestimmten Lebererkrankungen (Hepatitis, Lebercirrhose) eine Störung im Harnstoffcyclus vorliegt und an welcher Stelle des Reaktionscyclus die Störung zu lokalisieren ist. Es wurden hierzu nach peroraler Gabe von 10 g L-Argininhydro-

chlorid die am Harnstoffcyclus beteiligten Aminosäuren Arginin, Ornithin und Citrullin im Blutserum bestimmt, wobei die Analysen vor, sowie zwei und vier Stunden, in einzelnen Fällen auch sechs Stunden nach Arginingabe ausgeführt wurden. Außerdem wurde die Harnstoffkonzentration im Sechs-Stunden-Sammelurin gemessen. Die perorale Arginin-"Belastung" ist in zweifacher Hinsicht von Bedeutung: Erstens wird durch das Argininangebot die "funktionelle Reserve" der Leber möglichst weitgehend ausgelastet, zweitens wird der Anstau eines Metaboliten vor der gestörten Stoffwechselreaktion unter der Belastung besonders deutlich.

Da Arginin zur Therapie bei Lebererkrankungen empfohlen wurde (NAJARIAN und HARPER; REYNOLDS und Mitarb.; NAJARIAN; WOLFE u. Mitarb. u.a.), besteht für die orale Arginingabe keine Kontraindikation.

II. METHODIK

Bei Vorversuchen wurde lediglich die Argininausscheidung im 24-Stunden-Urin und die Argininkonzentration im Blutserum, jedoch nicht die Serumkonzentration anderer Metaboliten des Harnstoffcyclus bestimmt. Für die quantitative Bestimmung von Arginin sind in der Literatur mehrere photometrische Methoden angegeben worden. In der vorliegenden Arbeit wurden die Methoden von GILBOE (siehe unter 1) und PILSUM (siehe unter 2) auf ihre Eignung geprüft.

Die weiteren Untersuchungen erforderten eine Methode zur gleichzeitigen Bestimmung der drei am Harnstoffcyclus beteiligten Aminosäuren Arginin, Ornithin und Citrullin. Hierfür wurde ein säulenchromatographisches Verfahren (siehe unter 3) ausgearbeitet. Die Harnstoffausscheidung wurde durch Urease-spaltung des Harnstoffs und anschließende Titration des fermentativ abgespaltenen Ammoniaks (CONWAY-Methode) bestimmt (siehe unter 4).

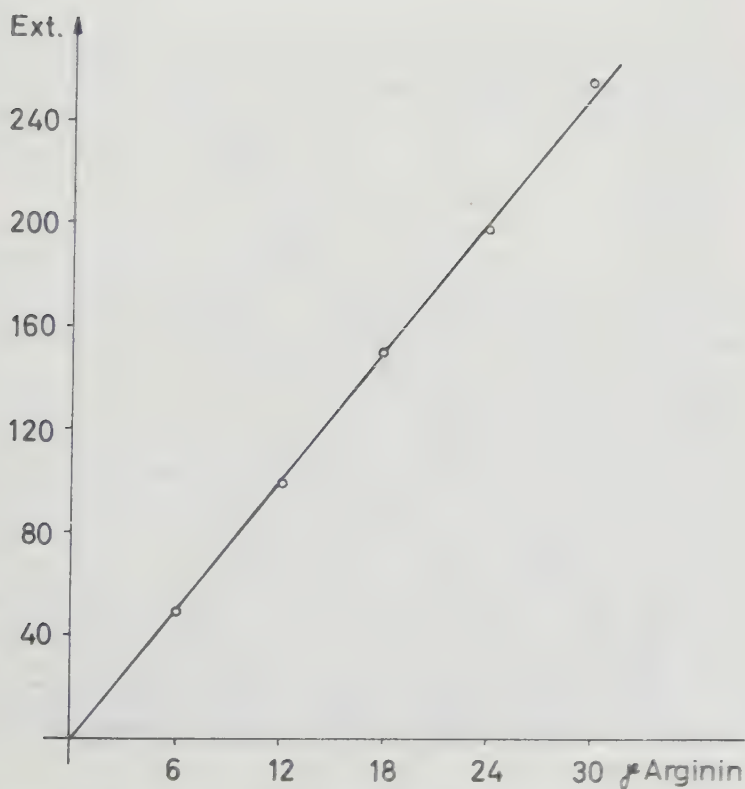
1. Argininbestimmung nach GILBOE

Prinzip: Arginin ergibt in wässriger Lösung mit 8-Oxy-Chinolin und Natriumhypobromit einen violetten Farbstoff mit einem Absorptionsmaximum bei 490 m μ .

Bei Durchführung der Farbreaktion an Arginintestlösung abgestufter Konzentration ergibt sich eine lineare Beziehung zwischen Extinktion und Argininkonzentration (Abb. 1). Das LAMBERT-BEER'sche Gesetz ist erfüllt. Wurde jedoch

Urin	Arginin - Testlösung	zugesezte Arginin - menge	gefundene Arginin - menge	Arginin - Sollwert	gefundene Arginin - menge in %
2,5 ml	—	—	13,5 μ	—	—
2,5 ml	1,0 ml	6 μ	14,1 μ	19,5 μ	72,3 %
2,5 ml	2,0 ml	12 μ	17,2 μ	25,5 μ	67,4 %

Abb. 1: Argininbestimmung nach GILBOE. Lineare Beziehung von Arginin-
konzentration und Extinktion.



Tab. 1: Argininbestimmung im Urin nach GILBOE. Ausbeute bei zuge-
setztem Arginin.

Urin	Arginin-Test- Lösung	Gesamtarginin in der Vorlage	gefundene Argininmenge	
			in μ	in %
0,5 ml	—	—	6,8 μ	—
0,5 ml	0,5 ml	12,8 μ	14,0 μ	109 %
0,5 ml	1,0 ml	18,8 μ	19,0 μ	101 %
0,5 ml	1,5 ml	24,8 μ	23,6 μ	95 %

Tab. 2: Argininbestimmung im Urin nach PILSUM. Ausbeute bei zugesetztem Arginin.

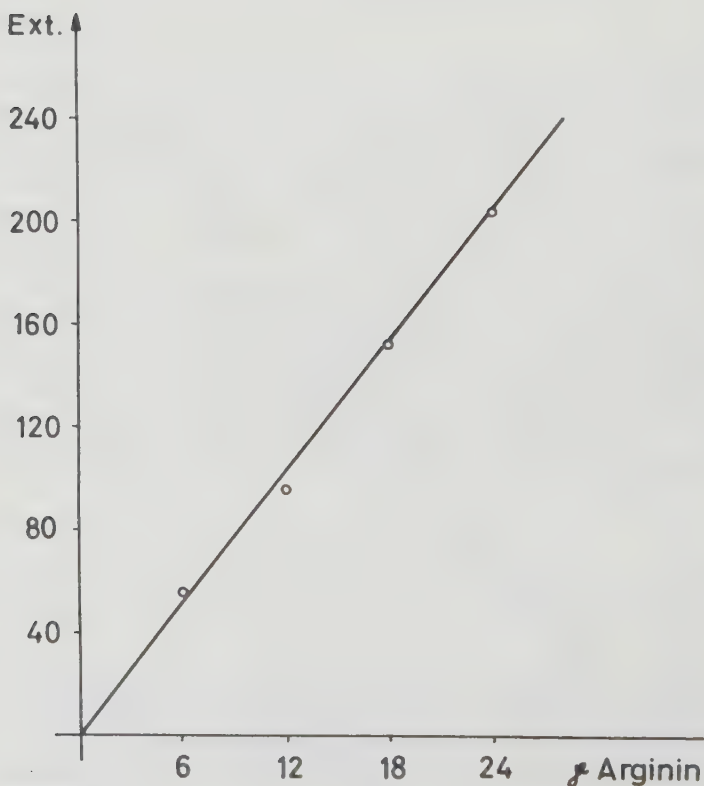


Abb. 2: Argininbestimmung nach PILSUM. Lineare Beziehung von Arginin-konzentration und Extinktion.

die Argininbestimmung im Urin vor und nach Zusatz einer bekannten Argininmenge ausgeführt, so konnte von dem zugesetzten Arginin bei einer Doppelbestimmung nur 67% bis 72% wiedergefunden werden (Tab.1). Wahrscheinlich hemmen im Urin enthaltene Substanzen die Bildung des Farbstoffs. Untersuchungen über die Art dieser Substanzen wurden nicht durchgeführt.

2. Argininbestimmung nach PILSUM

Prinzip: Arginin ergibt mit α -Naphthol in Gegenwart von Natriumhypochlorit und Thymin einen Farbstoff mit einem Absorptionsmaximum bei 490 m μ .

Für die Farbreaktion an wässriger Lösung von Arginin in abgestufter Konzentration gilt das LAMBERT-BEER'sche Gesetz; die Extinktion ist eine lineare Funktion der Argininkonzentration (Abb.2). Bei drei Argininbestimmungen im Urin vor und nach Zusatz einer bekannten Argininmenge (0,5 ml enthielten 6 μ Arginin) betrug die wiedergefundene Argininmenge 95% - 109% des Sollwertes (Tab.2).

Die von PILSUM angegebene Methode zur Argininbestimmung ist somit für die Analyse geeignet. Weitere Untersuchungen ergaben, daß mit dieser Methode die Argininkonzentration auch im Serum nach Enteiweißung mit Natriumwolframat bestimmt werden kann.

3. Säulenchromatographische Bestimmung von Arginin, Ornithin und Citrullin

Für die quantitative Bestimmung mehrerer Aminosäuren in biologischen Flüssigkeiten in einem Arbeitsgang ist die von MOORE und STEIN entwickelte Elutionschromatographie an Ionenaustauschersäulen die Methode der Wahl. Dieses Verfahren, für das in der Folgezeit einige Modifikationen angegeben wurden (MOORE und STEIN; SPACKMANN; STEIN und MOORE; HANNIG; GEROK) ermöglicht die isolierte Elution von Ornithin und Arginin und damit die quantitative Bestimmung dieser beiden Aminosäuren. Im Gegensatz hierzu überlagert sich Citrullin bei der Elutionschromatographie mit anderen Aminosäuren - meist Glutaminsäure und Prolin -, die in sehr viel höherer Konzentration als Citrullin im Serum und Urin enthalten sind. Dadurch wird die Genauigkeit der säulenchromatographischen Citrullinbestimmung bei den genannten Verfahren stark beeinträchtigt. Ein weiterer Nachteil beruht darauf, daß Citrullin mit Monaminodicarbonsäuren und Monaminomonocarbonsäuren auf einer zweiten Säule getrennt werden. Zeitaufwand und benötigte Serummenge sind

dadurch groß. Es wurde deshalb ein Verfahren entwickelt, das die Bestimmung der drei am Harnstoffcyclus beteiligten Aminosäuren in einem chromatographischen Arbeitsgang gestattet. Die Überlagerung von Citrullin stört dabei nicht, weil Citrullin im Eluat im Diacetylmonoxim quantitativ bestimmt wird. In gleicher Weise wie Citrullin reagieren mit Diacetylmonoxim nur Harnstoff und Carbamylverbindungen, jedoch ist deren Trennung durch die Säulenchromatographie möglich. Ornithin und Arginin werden getrennt eluiert und im Eluat mit Ninhydrin bestimmt.

a) Citrullinbestimmung mit Diacetylmonoxim nach BEALE und CROFT

Prinzip: Harnstoff gibt in Gegenwart von Phenylanthranilsäure mit Diacetylmonoxim bei stark saurer Reaktion und 100°C einen violetten Farbstoff mit einem Absorptionsmaximum bei $535\text{ m}\mu$. Die Stabilität des Farbstoffs wird durch Manganionen erhöht. Citrullin und N-substituierte Harnstoff-derivate reagieren in gleicher Weise.

Die Farbreaktion an Citrullinlösung in abgestufter Konzentration zeigt, daß im Bereich von $0,1$ bis $0,6\text{ }\mu\text{ Mol}$ die Extinktion eine lineare Funktion der Citrullinkonzentration ist (Abb.3). In jeweils vier weiteren Versuchen wurde der Einfluß von der Dauer des Erhitzens auf die Extinktion untersucht und die Stabilität des Farbstoffs geprüft. Die Extinktion, die bei Farbreaktion von $0,6\text{ }\mu\text{ Mol}$ Citrullin bei einer Erhitzungsdauer zwischen $10 - 20$ Minuten gemessen wurde, zeigt Abb.4. Die maximale Extinktion wird beim Erhitzen auf 100°C über $16 - 18$ Minuten erreicht. Der gebildete Farbstoff ist instabil. Abb.5 zeigt die Abnahme der Extinktion nach Farbreaktion von $0,6$ bzw. $0,3\text{ }\mu\text{ Mol}$ Citrullin in Abhängigkeit von der Zeit. Die Dauer des Erhitzens beträgt 12 Minuten.

b) Reagentien und Geräte

- 1) Ionenaustauschersäule AMBERLITE CG 120/III mit konstanter Korngröße $0,03$ bis $0,04\text{ mm}$. Heizmantel mit Wassertemperatur von 50°C .
- 2) NaOH-Citratpuffer pH $3,32$ ($0,2\text{ M}$)
- 3) NaOH-Citratpuffer pH $4,28$ ($0,38\text{ M}$)
- 4) Reagentien für Harnstoffbestimmung nach BEALE und CROFT
- 5) Ninhydrinreagenz nach MOORE und STEIN
- 6) Gerät zur Aminosäurenanalyse nach HANNIG. Pumpenaggregat mit konstanter Pufferförderung von 30 ml/Min. und Ninhydrinförderung

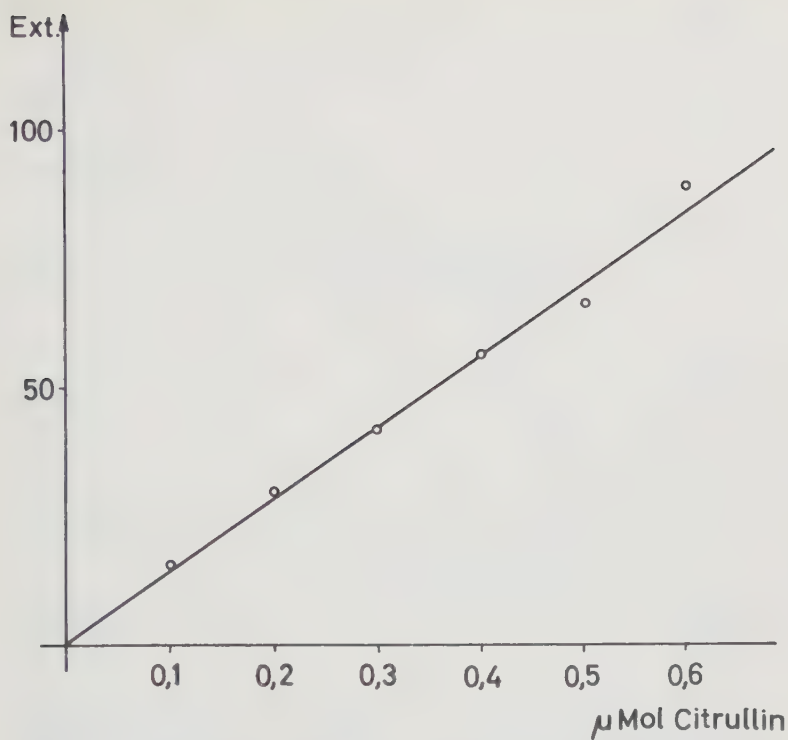


Abb. 3: Citrullinbestimmung nach BEALE und CROFT, Lineare Beziehung von Citrullinkonzentration und Extinktion.

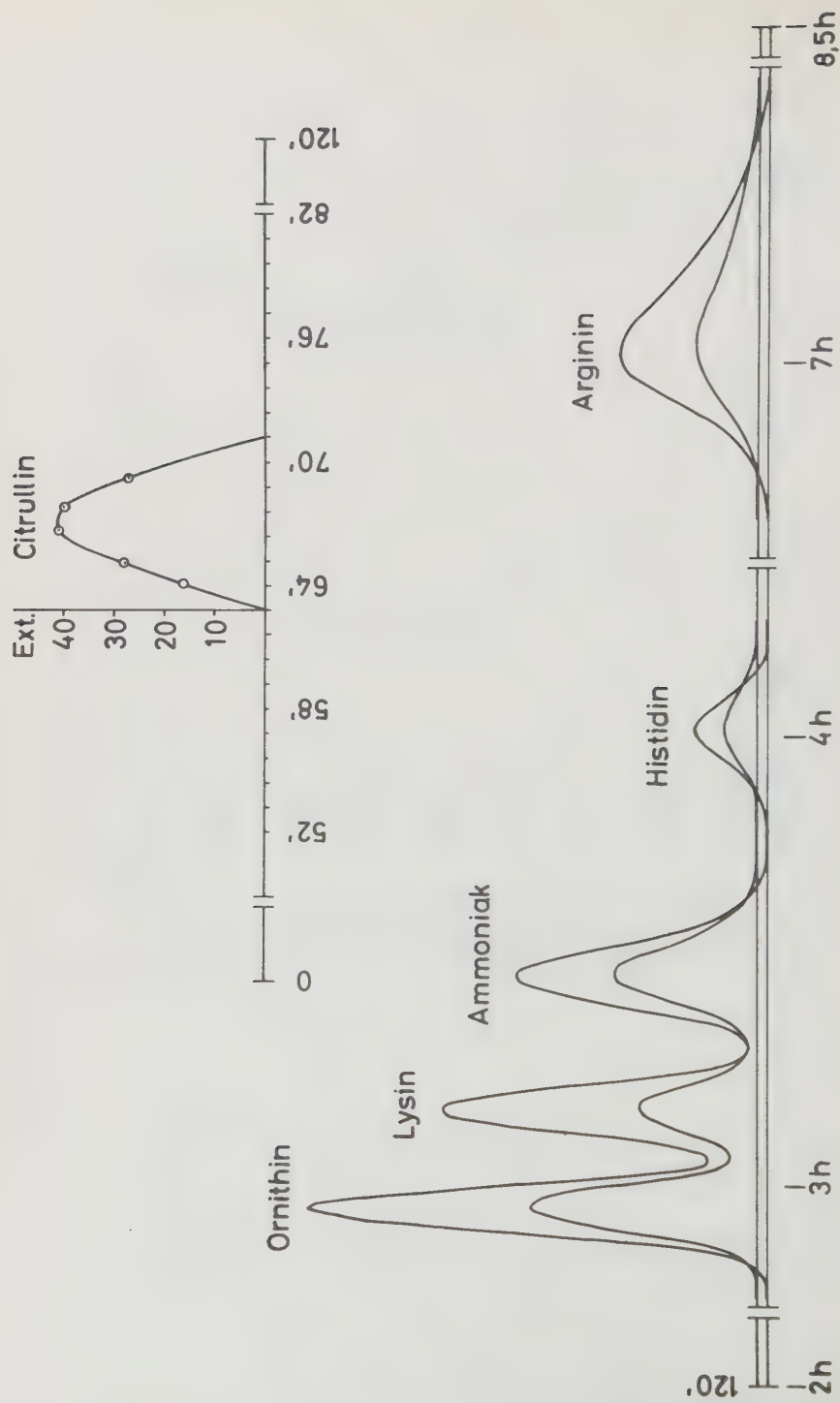


Abb. 6: Säulenchromatographische Trennung und quantitative Bestimmung von Citrullin, Ornithin und Arginin. (Lysin, Ammoniak und Histidin wurden nicht ausgetrennt)

von 15 ml/Min. Automatische Registrierung der Extinktion im Eluat nach Farbreaktion mit Ninhydrin.

c) Durchführung

Das zu analysierende Serum wird mit 20%iger Trichloressigsäure enteiweißt. Der filtrierte Fällungsüberstand wird zur Entfernung der Trichloressigsäure 5 mal mit Äther extrahiert und anschließend in einem Rotationsverdampfer bei 60°C und 12 Torr zur Trockene eingeeengt.

Der Rückstand wird in 1 ml Citratpuffer von pH 2,2 gelöst. Hiervon werden 0,8 ml auf die Austauschersäule aufgetragen. Die Elutionschromatographie beginnt mit Citrat-NaOH-Puffer von pH 3,32. 52 Minuten nach Beginn der Elution wird das Eluat in Einzelfraktionen von 0,6 ml gesammelt. Bei einem Pufferdurchfluß von 30 ml/Min. muß jeweils nach 72 Sekunden das Gefäß zum Auffangen des Eluats gewechselt werden. Nach dem Sammeln von 24 Eluatfraktionen wird die Elution mit Citrat-NaOH-Puffer von pH 4,28 fortgesetzt. Die Farbreaktion mit Ninhydrin wird kontinuierlich ausgeführt, in einer Durchflußküvette erfolgt die Extinktionsmessung mit automatischer Registrierung der Ergebnisse (Einzelheiten der Säulenchromatographie siehe GEROK).

An den mit Puffer von pH 3,32 eluierten Einzelfraktionen wird die Farbreaktion mit Diacetylmonoxim nach BEALE und CROFT ausgeführt. Die Summe der Extinktionen der Einzelfraktionen nach Abzug der Leerwerte ist proportional der Citrullinmenge in der auf die Säule aufgetragenen Serumprobe. Für die bei Puffer von pH 4,28 registrierten Extinktionen erfolgt die Auswertung durch Planimetrierung der Gauß'schen Verteilungskurven im Elutionsdiagramm. Die Fläche der "peaks" ist der Aminosäurenkonzentration proportional. Ein Elutionsdiagramm bei säulenchromatographischer Bestimmung von Citrullin, Ornithin und Arginin ist in Abb. 6 wiedergegeben.

4. Verwendete statistische Methoden

Zur Berechnung einer Häufigkeitsverteilung wurden folgende Größen benutzt:

1. Mittelwert: $m = \frac{\sum x_i}{n}$

2. Standardabweichung: $s_x = \sqrt{\frac{s_{xx}}{n-1}}$

$s_{xx} = \sum (x_i - \bar{x})^2 = \sum x_i^2 - \frac{(\sum x_i)^2}{n}$

3. Standardfehler des Mittelwerts: $s_M = \frac{s_x}{\sqrt{n}}$

Um die Mittelwerte zweier Gruppen statistisch vergleichen zu können, wurde der sog. t-Test angewandt. Die Größe t errechnet sich:

4. $t = \frac{m_1 - m_2}{\sqrt{s_{M_1}^2 + s_{M_2}^2}}$

Zum Vergleich der verschiedenzeitlichen Messungen bei derselben Person wurde der t-Test im paarweisen Vergleich herangezogen. Es wurde zunächst die Differenz bestimmt, dann der Mittelwert und Standardfehler errechnet. Für diesen Fall gilt:

5. $t = \frac{\bar{d}}{s_{\bar{d}}}$

Um die Beziehung zwischen zwei Variablen quantitativ auszudrücken, wurde der sog. Korrelationskoeffizient verwendet.

6. $r = \frac{s_{xy}}{\sqrt{s_{xx} \cdot s_{yy}}}$

Die Verteilungen von t und r sind bekannt. Das Signifikanzniveau kann unter Berücksichtigung der Freiheitsgrade aus den entsprechenden Tabellen unmittelbar abgelesen werden.

Fälle	ausgeschiedene Argininmenge in 24 Std.	
	vor Arginingabe	nach 5g Arginingabe
Normalfall	200 mg	198 mg
Normalfall	211 mg	214 mg
Normalfall	204 mg	173 mg
Normalfall	228 mg	155 mg
Normalfall	157 mg	201 mg
Normalfall	208 mg	206 mg
akute Hepatitis	299 mg	340 mg
akute Hepatitis	475 mg	468 mg
Lebercirrhose	122 mg	158 mg
cholostatische Hepatose	115 mg	134 mg

Tab. 3: Argininausscheidung im 24-Stunden-Urin bei Gesunden und Leberkranken ohne und mit Argininbelastung.

Fälle	Argininkonzentration im Serum nach Arginingabe			Harnstoffkonz. im Urin	
	Leerwert	2 Std.-Wert	4 Std.-Wert	Nüchternurin	16 Std. Sammelurin
Normalfall	1,31 mg %	3,61 mg %	2,60 mg %	1,36 mg %	1,83 g %
Normalfall	1,81 mg %	4,90 mg %	3,44 mg %	2,99 mg %	1,86 g %
Normalfall	1,79 mg %	2,81 mg %	3,41 mg %	2,38 mg %	1,96 g %
Normalfall	1,71 mg %	3,58 mg %	3,92 mg %	3,42 mg %	1,88 g %
Normalfall	1,91 mg %	3,92 mg %	2,93 mg %	2,68 mg %	2,23 g %
Normalfall	1,26 mg %	1,94 mg %	2,18 mg %	1,57 mg %	2,70 g %
Normalfall	1,94 mg %	3,14 mg %	2,45 mg %	2,35 mg %	3,31 g %
Normalfall	1,98 mg %	4,26 mg %	2,93 mg %	2,76 mg %	2,09 g %
Normalfall	2,86 mg %	5,29 mg %	3,82 mg %	3,14 mg %	1,70 g %
akute Hepatitis	1,71 mg %	2,72 mg %	2,59 mg %	1,94 mg %	1,85 g %
chronische Hepatitis	1,50 mg %	1,96 mg %	2,12 mg %	1,50 mg %	1,26 g %
Lebercirrhose	3,24 mg %	5,86 mg %	3,92 mg %	3,20 mg %	1,80 g %
Lebercirrhose	1,97 mg %	3,85 mg %	5,08 mg %	3,68 mg %	1,70 g %
Lebercirrhose	2,13 mg %	4,87 mg %	4,05 mg %	2,96 mg %	1,50 g %
Lebercirrhose	2,10 mg %	4,30 mg %	4,20 mg %	3,44 mg %	0,20 g %
Lebercirrhose	2,07 mg %	4,95 mg %	4,44 mg %	—	2,00 g %
Lebercirrhose	1,91 mg %	3,98 mg %	3,30 mg %	3,26 mg %	2,00 g %
Lebercirrhose	1,36 mg %	1,70 mg %	1,53 mg %	1,46 mg %	1,80 g %
Lebercirrhose	1,71 mg %	7,16 mg %	5,83 mg %	4,20 mg %	1,10 g %
Lebercirrhose					1,20 g %

Tab. 4:

Argininkonzentration im Serum vor und nach peroraler Gabe von 10 g L-Argininhydrochlorid bei Gesunden und Leberkranken.

III. ERGEBNISSE

1. Argininausscheidung im 24-Stunden-Urin

Bei 6 Gesunden, 2 Kranken mit akuter Hepatitis, 1 Kranken mit Lebercirrhose und 1 Kranken mit cholestatischer Hepatose wurde die Argininausscheidung im 24-Stunden-Urin an zwei aufeinanderfolgenden Tagen bestimmt. Am zweiten Tag wurden morgens 5 g L-Argininhydrochlorid peroral gegeben. Das Ergebnis der Untersuchung zeigt Tab.3.

Aus der Tabelle geht hervor, daß die Argininausscheidung bei Gesunden durch die perorale Gabe dieser Aminosäure nicht wesentlich beeinflußt wird. Von einem Test wurde deshalb abgesehen. Bei den beiden Kranken mit akuter Hepatitis ist die Argininausscheidung spontan und nach Arginin-"Belastung" größer als bei Gesunden. Ob diese Abweichung auf Zufall beruht, wurde nicht mit einem geeigneten Test überprüft. Die Zahl der Fälle ist zu klein, um mit einer genauen Bestimmungsmethode die Frage der Signifikanz eindeutig zu klären.

2. Argininkonzentration im Serum und Harnstoffausscheidung

Bei 9 Gesunden, je 1 Kranken mit akuter und chronischer Hepatitis und 8 Kranken mit Lebercirrhose wurde die Argininkonzentration im Serum vor, sowie 2, 4 und 6 Stunden nach der peroralen Gabe von 10 g L-Argininhydrochlorid bestimmt. Außerdem wurde die in den ersten 6 Stunden nach Arginingabe ausgeschiedene Argininmenge gemessen. Das Ergebnis der Untersuchung zeigt Tab.4.

Nach der Arginingabe steigt die Argininkonzentration im Serum an, die maximale Argininkonzentration wird nach 2 bis 4 Stunden erreicht; der Argininspiegel fällt dann wieder in Richtung zur Norm ab. Zwischen Gesunden und Leberkranken sind Unterschiede weder im zeitlichen Ablauf der Veränderungen der Argininkonzentration noch in den erreichten Maximalwerten nachweisbar. Auch für die Harnstoffausscheidung ergeben sich zwischen Gesunden und Kranken keine wesentlichen Differenzen. Die Abweichung vom Mittelpunkt ist sowohl bei der Argininbestimmung wie auch bei der Harnstoffmessung gering, wie aus Abb.7 zu ersehen ist.

Die Untersuchungen zeigen, daß die enterale Argininresorption und die Spaltung des Arginins durch die Urease bei Kranken mit Lebercirrhose und akuter Hepatitis nicht nachweisbar gestört sind. Wenn Störungen im Harnstoffcyclus

vorliegen, so müssen sie an anderer Stelle der Stoffwechselkette lokalisiert sein. Zu ihrem Nachweis ist es notwendig, weitere Metaboliten des Harnstoffcyclus quantitativ zu bestimmen.

3. Serumkonzentration von Citrullin, Ornithin und Arginin

Es wurden 10 Gesunde (4 Frauen und 6 Männer), 10 Kranke mit akuter Hepatitis (8 Frauen und 2 Männer) und 15 Kranke mit chronischer Hepatitis oder Lebercirrhose (5 Frauen und 10 Männer) untersucht. Bei weiteren 5 Gesunden (3 Männer und 2 Frauen) wurde nur Arginin und Ornithin bestimmt. Klinische Diagnosen, Ergebnisse von Funktionsproben und Befunde bei histologischer oder laparoskopischer Leberuntersuchung sind in Tab.5 wiedergegeben. Das Alter der Patienten schwankt zwischen 18 und 80 Jahren.

Die untersuchten Personen erhielten morgens nüchtern nach Entnahme von 10 ml Blut 10 g L-Argininhydrochlorid. Während der folgenden 6 Stunden erfolgte ausschließliche Ernährung mit Tee und Zwieback in beliebiger Menge. Zwei und vier Stunden, in einigen Fällen auch sechs Stunden nach der Arginingabe, wurden je 10 ml Blut zur säulenchromatographischen Analyse entnommen.

Bei der Auswertung der im Experiment ermittelten Serumkonzentrationen der drei am Harnstoffcyclus beteiligten Aminosäuren Arginin, Ornithin u. Citrullin vor und nach Gabe von 10 g L-Argininhydrochlorid, lag zunächst die Frage nahe, inwieweit sich die absoluten Serumkonzentrationen der drei untersuchten Aminosäuren bei Gesunden und Leberkranken unterscheiden. Es wurde deshalb die Summe der Serumkonzentration jeder der drei Aminosäuren vor, 2 und 4 Stunden nach Arginingabe für jede Personengruppe gebildet. Anschließend wurden die Mittelwerte der Aminosäurenkonzentration bei Kranken mit akuter Hepatitis und Kranken mit chronischer Hepatitis bzw. Lebercirrhose mit Hilfe des t-Tests mit dem entsprechenden Mittelwert der gesunden Vergleichsgruppe in Beziehung gesetzt. Zwischen Gesunden und Kranken mit akuter Hepatitis bzw. chronischer Hepatitis und Lebercirrhose konnte kein signifikanter Unterschied der mittleren Serumkonzentration von Arginin und Ornithin festgestellt werden. Hingegen ist der Citrullinspiegel im Serum bei Kranken mit akuter Hepatitis 4 Stunden nach Arginingabe signifikant höher als der bei Gesunden; d.h. mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 1% liegt der mittlere Citrullinspiegel 4 Stunden nach Arginingabe bei Kranken mit akuter Hepatitis höher als bei Normalpersonen. Noch ausgeprägter ist der Unterschied der mittleren Serumkonzentration von Citrullin bei Kranken mit chronischer Hepatitis bzw. Lebercirrhose. Der Citrullinspiegel liegt bei dieser Krankengruppe 2 und

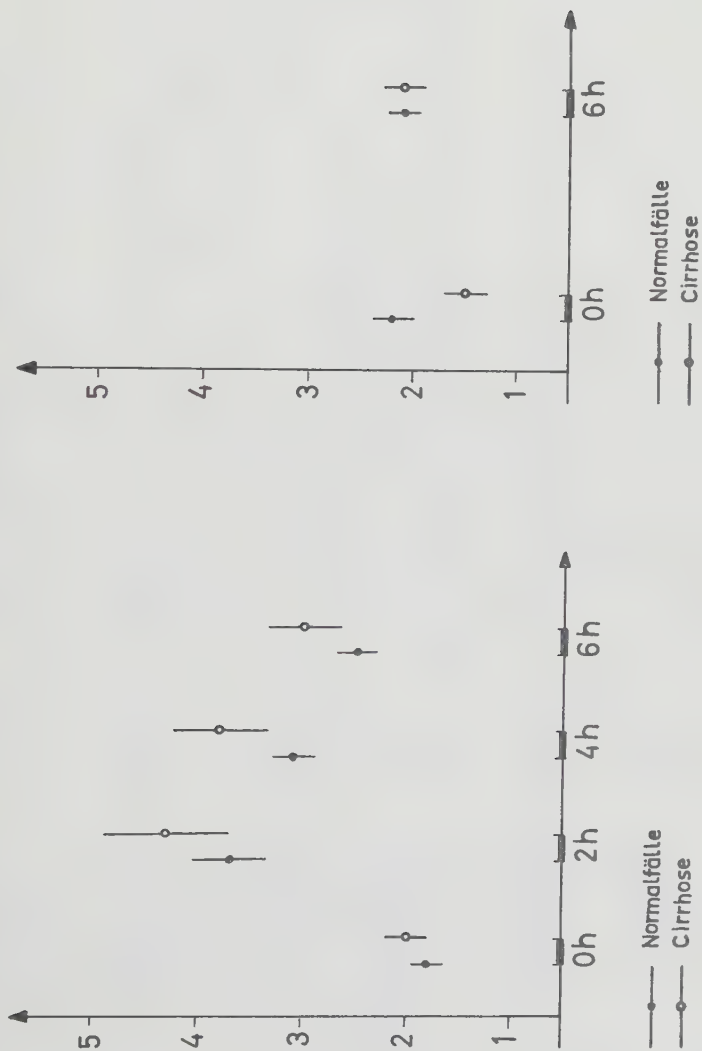


Abb. 7: Abweichung vom Mittelpunkt bei Arginin- bzw. Harnstoffbestimmung.

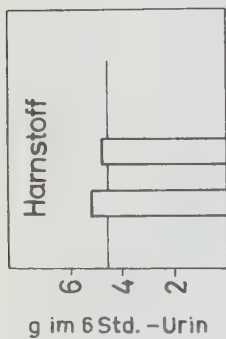
Diagnose	Bili- rubin mg %	Brom- test	Elektrophorese Alb/α ₁ /α ₂ /β/γ/Esterase	Chol.	SGPT	LDH	Quick	Anamnese	Histologie
akute Hepat.	2,2	2,4 %	53/3/6/16/22	4,5	240	214	-	Urlaub in Rom → Übelkeit → Ikterus	—
" "	5,5	13 %	50/6/9/18/17	-	313	266	80 %	Mattigkeit seit Wochen → Ikterus	—
" "	2,3	-	40/6/8/15/31	-	115	125	86	Mattigkeit seit Wochen → Conjunctivikerus	—
" "	7,3	-	52/6/7/13/22	3,5	976	907	482	Übelkeit seit Wochen → Ikterus	—
" "	1,2	4 %	52/4/7/5/14/22/5	-	15	22	-	Abgespannt seit Wochen → Ikterus	—
" "	2,4	-	—	-	250	290	-	Mehrere Ikterusfälle in der Umgebung	—
" "	7,6	-	50/6/9/11/24	-	500	1240	-	Mehrere Ikterusfälle in der Umgebung	—
" "	4,0	-	50/6/9/13/22	-	855	1840	-	Mehrere Ikterusfälle in der Umgebung	—
" "	6,0	-	51/7/9/11/22	-	23	40	-	Seit etwa 3 Wochen Übelkeit → Ikterus	—
" "	0,8	17 %	46/6/8/14/26	214	232	235	-	1961 Cholecystektomie, jetzt Übelkeit seit Wochen → Ikterus	—
chron. Hepat.	8,8	-	47/5/7/13/28	-	398	490	100	1960 Autounfall mit 3 Leberlappen, die chirurg. versorgt wurden	Umbau im Sinne einer Lebercirrh.
" "	1,2	28 %	22/4/5/17/52	-	28	19	-	1953 Ikterus, seit dieser Zeit Oberbauchbeschwerden	—
" "	1,6	35 %	29/5/9/19/38	73	94	40	-	Seit 3 Jahren Leberleiden bekannt, keine spez. Therapie	geringgradige Lebercirrhose
" "	1,0	11 %	43/4/10/14/29	-	68	65	-	1949 Ikterus, seit dieser Zeit Oberbauchbeschwerden	—
" "	-	-	35/4/9/16/36	-	80	40	-	1953 Ikterus, seit dieser Zeit Beschwerden	—
Lebercirrhose	0,4	17 %	44/6/11/20/19	3,6	69	16	169	1947 und 1959 Hepatitis	Fettleber, beginnende Lebercirrh.
" "	0,8	13 %	40/5/13/13/28	-	25	14	100	vor 1/2 Jahr Subikterus, jetzt Ascites	Pigmentcirrhose
" "	3,9	40 %	44/5/7/10/34	1,8	27	11	215	vor 4 Jahren Laparoskopie → Cirrhose, jetzt foetor hepatis	progrediente Lebercirrhose
" "	2,7	42 %	42/4/6/16/34	-	-	-	235	1948 Ikterus, 1960 Laparoskopie ergab Lebercirrhose	progrediente Lebercirrhose
" "	8,1	42 %	31/7/8/20/34	-	normal	7	251	Diagnose vor 6 Jh. zum erstenmal gestellt, Patient praekom.	—
" "	9,2	38 %	40/2/6/10/42	-	35	31	206	1943 Ikterus, jetzt erneut Ikterus, Oesophagusvarizen	—
" "	6,1	41 %	32/6/9/18/35	-	18	14	113	Lebercirrhose seit 6 Jahren bekannt	—
" "	-	50 %	36/9/18/14/33	-	20	7	302	Lebercirrhose seit 1 Jh. bekannt, jetzt Ikterus und Ascites	—
" "	3,2	54 %	33/4/6/8/49	-	26	6	258	Lebercirrhose seit 6 Jahren bekannt, Exitus	Laennec'sche Cirrhose
" "	1,0	42 %	35/5/8/12/40	2,4	14	10	147	Vor 6 Monaten Bluterbrechen, jetzt Ikterus	—

Tab. 5: Klinische Symptome, Ergebnisse von Leberfunktionsproben und

	Citrullin				Ornithin				Arginin			
	Zeit in Std.	0	2	4	0	2	4	0	2	4	0	4
Normalfälle	n	10	10	10	15	15	14	14	14	15		
	m ± S _M	30,9 ± 3,2	37,9 ± 3,95	37,6 ± 3,69	169,8 ± 15,6	340,8 ± 27,7	324,5 ± 31,8	108,6 ± 15,2	238,0 ± 27,0	188,4 ± 21,1		
	S	10,5	12,5	11,7	56,7	107,2	118,9	56,9	101,1	81,6		
akute Hepatitis	n	10	10	10	10	10	10	10	10	10		
	m ± S _M	36,1 ± 3,4	53,7 ± 8,2	57,5 ± 5,5	168,5 ± 12,6	355,2 ± 23,1	362,4 ± 33,7	123,6 ± 10,1	346,2 ± 34,1	232,8 ± 29,7		
	S	10,8	26,0	17,3	39,8	73,1	105,4	31,8	107,6	93,9		
Lebercirrhose	t	1,09	1,70	<u>3,00</u>	0,07	0,39	0,82	0,82	2,48	1,22		
	n	15	15	15	15	14	15	15	15	15		
	m ± S _M	38,3 ± 4,4	62,5 ± 4,3	66,0 ± 8,0	135,6 ± 11,5	345,4 ± 20,1	321,4 ± 26,2	118,1 ± 11,2	326,0 ± 42,9	281,4 ± 37,5		
	S	17,1	16,6	30,8	44,7	75,1	101,5	43,2	165,8	145,2		
	t	1,34	<u>4,20</u>	<u>3,20</u>	0,60	0,13	0,08	0,50	2,10	2,16		

t signifikant =

Tab. 6: Serumkonzentration von Ornithin, Arginin und Citrullin bei Gesunden und Leberkranken unter Argininbelastung (10 g L-Arginin-hydrochlorid). Stat. Auswertung mit Hilfe des t-Tests.



— Gesunde m ± σ
 - - - Hepatitis acuta
 —●— Cirrhose

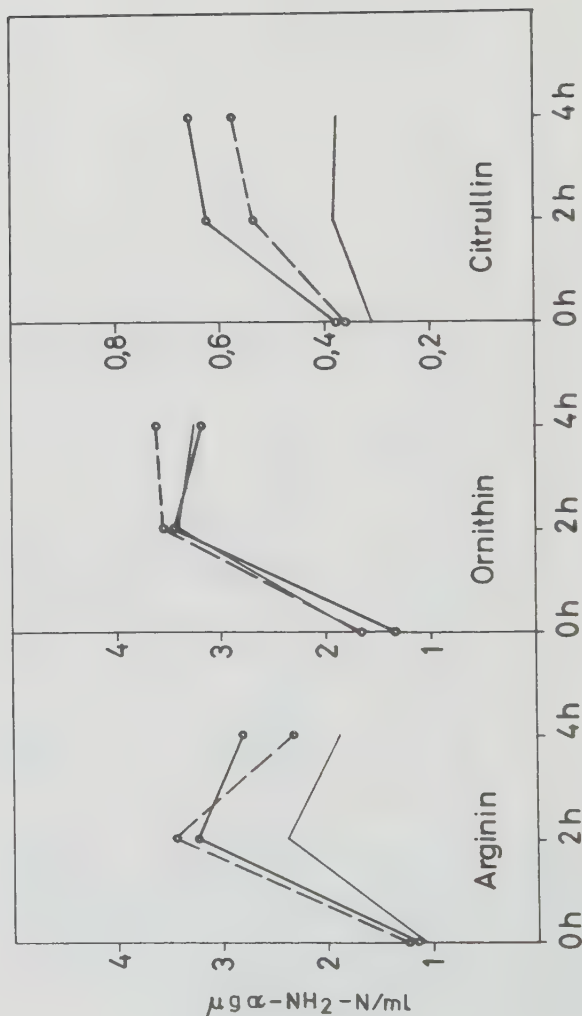


Abb. 8: Graphische Darstellung der Serumkonzentration von Ornithin, Arginin und Citrullin, sowie der Harnstoffausscheidung bei Gesunden und Leberkranken unter Argininbelastung. Der schraffierte Bereich ist die einfache Standardabweichung bezogen auf den

		Normalfälle		Hepatitis		Cirrhose	
	Zeit in Std.	0 - 2	0 - 4	0 - 2	0 - 4	0 - 2	0 - 4
Citrullin	$\bar{d}$	7,11	6,72	17,60	21,40	24,20	27,80
	n	10	10	10	10	15	15
	t	1,84	2,19	<u>2,91</u>	<u>4,22</u>	<u>4,07</u>	<u>2,85</u>
Ornithin	$\bar{d}$	170,99	151,63	186,70	193,96	210,50	185,86
	n	15	14	10	10	14	15
	t	<u>8,72</u>	<u>6,52</u>	<u>7,21</u>	<u>7,18</u>	<u>7,59</u>	<u>7,39</u>
Arginin	$\bar{d}$	137,08	75,57	222,60	109,20	207,93	163,27
	n	13	14	10	10	15	15
	t	<u>5,31</u>	<u>3,55</u>	<u>6,95</u>	<u>4,12</u>	<u>5,68</u>	<u>5,60</u>

t auffällig = —

t signifikant = ==

Tab. 7: Anstieg der Serumkonzentration von Arginin, Ornithin und Citrullin bezogen auf den Ausgangswert vor peroraler Argininsgabe (t im paarweisen Vergleich).

		Citrullin		Ornithin		Arginin	
	Zeit in Std.	0 - 2	0 - 4	0 - 2	0 - 4	0 - 2	0 - 4
Normalfälle - Hepatitis	t	1,46	<u>2,48</u>	0,48	1,19	2,09	0,98
Normalfälle - Cirrhose	t	<u>2,41</u>	<u>2,07</u>	1,16	1,00	1,58	<u>2,24</u>

t auffällig = —

Tab. 8: Anstieg der drei Aminosäuren des Harnstoffcyclus bei Leberkranken im Vergleich mit gesunden Personen, (t im paarweisen Vergleich)

Normalfälle

	Ornithin	Citrullin	Arginin
Ornithin	1,000		
Citrullin	-0,286	1,000	
Arginin	0,235	0,037	1,000

Hepatitis

	Ornithin	Citrullin	Arginin
Ornithin	1,000		
Citrullin	0,137	1,000	
Arginin	0,146	0,328	1,000

Cirrhose

	Ornithin	Citrullin	Arginin
Ornithin	1,000		
Citrullin	0,272	1,000	
Arginin	0,027	-0,219	1,000

Tab. 9: Korrelationskoeffizient zwischen der Differenz 0 - 4 von Ornithin, Citrullin und Arginin.

Bei 9 Freiheitsgraden müßte r auf dem 1%-Niveau größer als 0,73 sein.

4 Stunden nach oraler Argininzufuhr signifikant höher als bei Gesunden. Die Ergebnisse sind in Tab.6 zusammengestellt und in Abb.8 graphisch dargestellt. In Abb.8 ist der schraffierte Bezirk lediglich die einfache Standardabweichung bezogen auf den Mittelwert der Normalfälle.

Die zweite Frage, die gestellt wurde, war, ob nach oraler Arginingabe bei Gesunden und Kranken die Serumkonzentration von Arginin, Ornithin und Citrullin zunimmt. Dazu wurde in jedem einzelnen Fall die Differenz 0-2 und 0-4 gebildet. (0 = Aminosäurenkonzentration vor Arginingabe, 2 und 4 = Aminosäurenkonzentration 2 bzw. 4 Stunden nach oraler Argininzufuhr.) Mit den so erhaltenen Werten wurde ein t-Test im paarweisen Vergleich durchgeführt. Wie aus Tab.7 zu ersehen ist, steigen nach der Arginingabe bei allen untersuchten Personen, bei Gesunden und bei Kranken, nach 2 und 4 Stunden die Argininkonzentration und die Ornithinkonzentration signifikant an. Kranke mit akuter Hepatitis reagieren auf die orale Argininzufuhr mit einem auffällig erhöhten Citrullinspiegel nach 2 Stunden und einem signifikanten nach 4 Stunden; Kranke mit chronischer Hepatitis bzw. Lebercirrhose haben 2 Stunden nach Argininbelastung einen signifikant erhöhten Citrullinspiegel und nach 4 Stunden einen auffällig erhöhten. Bei den gesunden Vergleichspersonen steigt die Citrullinkonzentration weder signifikant noch auffällig an.

Man kann nun noch die Frage stellen, ob sich Gesunde und Leberkranke hinsichtlich der Serumkonzentration nach Arginingabe unterscheiden. Hierzu wurden wieder die Differenzen 0-2 und 0-4 gebildet, und mit diesen Werten ein t-Test durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Tab.8 zusammengestellt. Bei der Gegenüberstellung Gesunder und Kranker mit akuter Hepatitis ist lediglich die Differenz 0-4 auffällig erhöht, d.h. man kann mit gewisser Wahrscheinlichkeit sagen, daß bei Kranken mit akuter Hepatitis der Citrullinspiegel stärker zunimmt als bei Gesunden. Ebenso wurden Normalfälle und Kranke mit chronischer Hepatitis bzw. Lebercirrhose gegenübergestellt. Bei diesem Vergleich überschreiten die Werte 0-2 und 0-4 die Auffälligkeitsgrenze (5% Niveau); d.h. mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% kann man annehmen, daß nach Arginingabe bei Kranken mit chronischer Hepatitis bzw. Lebercirrhose der Citrullinspiegel im Serum stärker ansteigt als bei Gesunden.

Zum Abschluß der statistischen Auswertung der experimentell ermittelten Werte wurde eine Korrelationsrechnung durchgeführt, um die Anstiege der einzelnen Aminosäuren untereinander in Beziehung zu setzen. Alle Korrelationskoeffizienten sind jedoch nicht signifikant, wahrscheinlich der geringen Freiheitsgrade wegen. Von einer weiteren Bearbeitung mit Hilfe der partiellen Korrelationsrechnung wurde daher abgesehen. Einzelheiten siehe Tab.9.

IV. DISKUSSION

Durch die vorliegenden Untersuchungen sollte geklärt werden, ob bei Lebererkrankungen eine Störung der Harnstoffsynthese vorliegt. Es erscheint zunächst naheliegend, diese Frage dadurch zu prüfen, daß die Harnstoffausscheidung im Urin und die Harnstoffkonzentration im Serum bei Leberkranken bestimmt und mit den bei Gesunden ermittelten Werten verglichen werden.

Extrem niedrige Harnstoffkonzentrationen sind selten: GALLAGHER und SELIGSON fanden bei 16 000 Bestimmungen in 1% der Fälle Werte unter 5 mg/100 ml. Diese niedrigen Werte wurden jedoch nicht bei Lebererkrankungen, sondern bei exogen und endogen bedingten Verschiebungen im Wasserhaushalt beobachtet. Der Befund einer normalen Harnstoffkonzentration im Serum bei Leberkranken spricht aber keineswegs gegen das Bestehen einer Störung der Harnstoffsynthese; bei vermehrtem Anfall von Ammoniak, wie er bei Lebererkrankungen häufig beobachtet wird, wäre eine Steigerung der Harnstoffbildung zu erwarten. Entscheidend für den Nachweis oder Ausschluß einer Harnstoffsynthesenstörung ist deshalb nicht die absolute Größe der Harnstoffkonzentration oder die Harnstoffausscheidung im Urin, sondern die Relation von Ammoniak- und Harnstoffbildung.

Die meist angewandten Mikrodiffusionsmethoden der Ammoniakbestimmung sind mit einem zu großen methodischen Fehler behaftet, um die im Serum bestimmte Ammoniakkonzentration mit dem Serumharnstoffwert in Relation zu setzen. Wir haben deshalb einen anderen Weg zur Prüfung der Harnstoffsynthese gewählt: Die am Harnstoffcyclus beteiligten Aminosäuren (Arginin, Ornithin und Citrullin) wurden quantitativ bestimmt. Hierbei wurden die Serumkonzentrationen der drei Aminosäuren vor und in verschiedenen zeitlichen Abständen nach einer peroralen Gabe von 10 g L-Argininhydrochlorid gemessen. Durch die Argininbelastung sollte einerseits die funktionelle Reserve der Leber voll ausgelastet, andererseits der "Anstau" von Metaboliten vor der gestörten Stoffwechselreaktion besonders deutlich werden.

Die Bestimmung der Argininkonzentration im Serum nach peroraler Argininingabe bei Gesunden und Leberkranken (Ergebnisse, Abschnitt III, 2) zeigt, daß die Argininkonzentration im Serum nach Argininingabe bei Leberkranken in gleicher Weise wie bei Gesunden ansteigt. Bei Gesunden und Kranken mit akuter Hepatitis bzw. Lebercirrhose verläuft somit die enterale Argininresorption identisch. Unterschiede zwischen Gesunden und Leberkranken hinsichtlich der Serumkonzentration eines Argininmetaboliten nach peroraler Argininzufuhr können nicht auf Differenzen bei der enteralen Argininresorption zurückgeführt werden, son-

dern sind durch Änderungen der Stoffwechselvorgänge im Anschluß an die Resorption hervorgerufen.

Aus den Bestimmungen der Argininkonzentration im Serum und der Harnstoffausscheidung (Ergebnisse, Abschnitt III, 2) ergibt sich, daß bei Hepatitis und Lebercirrhose die Abspaltung des Harnstoffs vom Arginin mit Hilfe der Urease nicht gestört ist. Eine solche Störung müßte bei Leberkranken zu einem stärkeren Argininanstieg im Serum und zu einer verminderten Harnstoffausscheidung führen. Beides ist nicht der Fall. Bei Hepatitis und Lebercirrhose kann das stark vermehrt angebotene Arginin wie bei Gesunden mit Hilfe der Arginase gespalten werden. Auch die Umwandlung von Ornithin in Citrullin verläuft bei Leberkranken wahrscheinlich normal, da ein "Anstau" von Ornithin fehlt.

Bei Kranken mit Lebercirrhose ist hingegen die Citrullinkonzentration im Serum 2 und 4 Stunden nach der Arginingabe, bei Kranken mit akuter Hepatitis 4 Stunden nach Arginingabe gegenüber Gesunden signifikant erhöht. Dieser Befund ist wahrscheinlich dadurch zu erklären, daß bei den untersuchten Lebererkrankungen die Umwandlung von Citrullin in Arginin, d.h. die Einschleusung des zweiten Ammoniakmoleküls in Form von Asparaginsäure, in den Harnstoffcyclus gehemmt ist.

Dieser Deutung scheint zunächst der Befund einer normalen Argininkonzentration zu widersprechen. Es ist jedoch zu berücksichtigen, daß Arginin nicht nur im Harnstoffcyclus aus Citrullin, sondern im Gegensatz zu Citrullin und Ornithin auch durch den hydrolytischen Abbau von Proteinen entstehen kann. Wahrscheinlich kompensiert die Argininbildung durch Proteolyse die verminderte Argininproduktion im Harnstoffcyclus.

Bei der oben gegebenen Deutung der Ergebnisse, d.h. bei einer Hemmung der Umwandlung von Citrullin in Arginin, ist ferner ein weiterer Rückstau im Stoffwechselweg, nämlich ein Anstau von Ornithin neben Citrullin, zu erwarten. Eine solche Konzentrationszunahme von Ornithin ist nicht nachweisbar. Ornithin ist jedoch nicht nur ein Metabolit im Harnstoffcyclus; durch Transaminierung der δ -Aminogruppe kann aus Ornithin der Glutaminsäure- α -semialdehyd und hieraus Glutaminsäure oder durch Ringschluß Prolin gebildet werden (STETTEN; SHEMIN und RITTENBERG; SMITH und GREENBERG). Bei Lebercirrhose ist im Serum sowohl Glutaminsäure als auch Prolin vermehrt (GEROK). Es ist deshalb wahrscheinlich, daß Ornithin bei Lebercirrhose vermehrt in Stoffwechselreaktionen, die zu Glutaminsäure und Prolin führen, eingeht und daß hierdurch ein Anstau von Ornithin, der auf Grund der Störung im Harnstoffcyclus entstehen könnte, ausgeglichen wird.

Die Ursache für die Störung der Umwandlung von Citrullin in Arginin, d.h. für die Störung im Harnstoffcyclus, ist noch nicht bekannt. Die mitgeteilten Befunde ergeben hierfür keine Anhaltspunkte. Am naheliegendsten ist die Annahme, daß die Aktivität der Enzyme, die die Umwandlung von Arginin in Citrullin bewirken, vermindert ist. Es handelt sich hierbei um zwei Enzyme: Das eine (Argininosuccinatsynthetase) bewirkt die Bildung, das andere (Argininosuccinase) die Spaltung der Argininbernsteinsäure. Die Serumkonzentration von Argininbernsteinsäure wurde nicht bestimmt; es kann deshalb nicht entschieden werden, ob Bildung oder Spaltung dieses Metaboliten bei Leberkranken gehemmt ist. BROWN und COHEN haben die Aktivität der am Harnstoffcyclus beteiligten Enzyme bestimmt und festgestellt, daß die Synthese der Argininbernsteinsäure (Reaktion der Argininosuccinatsynthetase) die limitierende Reaktion im Harnstoffcyclus ist. Im Tierexperiment beobachteten ROSSI und McLEAN als Spätfolge einer CCl_4 -Vergiftung bei der Ratte einen Abfall der Aktivität der Argininosuccinatsynthetase. Es ist deshalb möglich, daß auch bei Lebererkrankungen (Hepatitis und besonders Lebercirrhose) dieses Enzym für die Synthese der Argininbernsteinsäure in seiner Aktivität vermindert ist und daß dadurch die Störung bei der Umwandlung von Citrullin in Arginin verursacht wird. Sichere Aussagen sind aber erst nach Bestimmung der Enzymaktivitäten im Lebergewebe möglich.

Da die Umwandlung von Citrullin in Arginin an Energielieferung durch Spaltung von ATP gebunden ist, muß ferner diskutiert werden, daß ein ATP-Mangel für die Störung im Harnstoffcyclus verantwortlich ist. Läge tatsächlich ein ATP-Mangel vor, so wäre wahrscheinlich nicht nur die Synthese der Argininbernsteinsäure, sondern auch die Bildung von Carbamylphosphat, d.h. die Umwandlung von Ornithin in Citrullin, gehemmt. Nach den mitgeteilten Untersuchungsbefunden ist dies nicht der Fall. Ein ATP-Mangel als Ursache des gestörten Harnstoffcyclus ist deshalb wenig wahrscheinlich.

Die Umwandlung von Citrullin in Arginin vollzieht sich nicht nur in der Leber; die hieran beteiligten Enzyme - Argininosuccinatsynthetase und Argininosuccinase - sind auch in der Niere vorhanden. Offensichtlich reicht aber die Aktivität dieser Enzyme in der Niere nicht aus, um die verminderte Aktivität der Leberenzyme infolge von Lebererkrankungen zu kompensieren. In diesem Zusammenhang ist bemerkenswert, daß bei Vergiftung mit Pilzen der Amanita-Gruppe (*Amanita phalloides*) Arginin im Blutserum nicht nachweisbar ist. Wahrscheinlich ist in diesem Fall durch den Angriff des Toxins an Leber und Niere die Umwandlung von Citrullin in Arginin vollständig blockiert (BOCK und Mitarb.).

Für die Therapie der Ammoniakintoxikation bei Lebererkrankungen sind in den letzten Jahren mehrfach Arginininfusionen empfohlen worden. Aus unseren Untersuchungsbefunden geht hervor, daß durch Arginingabe die Störung im Harnstoffcyclus nicht beseitigt werden kann. Unsere experimentellen Befunde erklären ferner die klinischen Beobachtungen, wonach unter Arginininfusion die Harnstoffkonzentration im Serum zwar ansteigt, die Ammoniakintoxikation hingegen unverändert bleibt (VILLARREAL und Mitarb. u.a.). McLEAN und GURNEY haben gezeigt, daß die Aktivität der am Harnstoffcyclus beteiligten Enzyme, insbesondere der Argininosuccinatsynthetase und der Arginase, durch Nebennierenrindenhormone gesteigert wird. Es ist möglich, daß hierauf unter anderem der günstige Effekt der Therapie mit Nebennierenrindensteroiden bei Lebererkrankungen beruht. Weitere experimentelle Untersuchungen zur Klärung dieser Frage sind erforderlich.

V. ZUSAMMENFASSUNG

1. In der vorliegenden Arbeit wird untersucht, ob bei Lebererkrankungen eine Störung im Harnstoffcyclus vorliegt. Anlaß zu den Untersuchungen gab die Beobachtung einer Zunahme des Blutammoniaks bei Lebererkrankungen. Diese Zunahme ist einerseits durch vermehrte Ammoniakbildung im Darm, andererseits durch verminderte Ammoniakentgiftung in der Leber verursacht.
2. Zur Prüfung des Harnstoffcyclus werden nach oraler Gabe von 10 g L-Arginin-HCl die drei am Harnstoffcyclus beteiligten Aminosäuren (Arginin, Ornithin, Citrullin) bestimmt. Durch die Argininbelastung soll die "funktionelle Reserve" des Organs voll ausgelastet werden und der "Anstau" eines Metaboliten vor einer gestörten Stoffwechselreaktion besonders deutlich werden.
3. Methoden zur Argininbestimmung werden überprüft (GILBOE; PILSUM). Es wird ein Verfahren ausgearbeitet, das die quantitative Bestimmung der drei am Harnstoffcyclus beteiligten Aminosäuren ermöglicht. Die Aminosäuren werden hierbei säulenchromatographisch getrennt. Im Eluat wird Citrullin mit Diacetylmonoxim, Ornithin und Arginin mit Ninhydrin bestimmt. Die Untersuchungen werden für Citrullin bei 10 Gesunden, für Arginin und Ornithin bei 14 bzw. 15 Gesunden, 10 Kranken mit akuter Hepatitis und 14 bzw. 15 Kranken mit chronischer Hepatitis oder Lebercirrhose ausgeführt. Die stat. Auswertung der Ergebnisse erfolgte mit Hilfe des t-Tests.

4. Der Anstieg von Arginin und Ornithin nach oraler Arginingabe ist sowohl bei Gesunden wie auch bei Leberkranken nachweisbar. Die Serumkonzentration dieser Aminosäuren steigt zunächst an, ist nach etwa 2 Stunden am höchsten und fällt dann wieder in Richtung Norm ab. Für Citrullin ist ein Anstieg der Serumkonzentration nur bei Kranken mit akuter Hepatitis nach 4 Stunden, bei Kranken mit chronischer Hepatitis bzw. Lebercirrhose nach 2 und 4 Stunden nachweisbar.
Der absolute Citrullinspiegel liegt bei Kranken mit akuter Hepatitis 4 Stunden nach oraler Argininbelastung signifikant höher als bei der gesunden Vergleichsgruppe. Kranke mit chron. Hepatitis oder Lebercirrhose haben 2 und 4 Stunden nach der Aminosäurengabe einen signifikant höheren Serumspiegel als Gesunde.
Hinsichtlich der Zunahme der Serumkonzentration von Arginin und Ornithin unterscheiden sich Gesunde und Kranke mit akuter Hepatitis nicht. Lediglich der Citrullinspiegel nimmt nach 4 Stunden stärker zu. Der Vergleich Gesunder mit Kranken mit chronischer Hepatitis bzw. Lebercirrhose zeigt, daß Citrullin 2 und 4 Stunden nach Arginingabe stärker zunimmt als bei Normalpersonen. Außerdem ist noch ein Unterschied hinsichtlich des Argininanstiegs, nicht aber der Argininkonzentration zu verzeichnen, und zwar 4 Stunden nach der oralen Argininzufuhr. Eine abschließend durchgeführte Korrelationsrechnung bringt wegen der geringen Freiheitsgrade keine signifikanten Korrelationskoeffizienten.
5. Mögliche Ursachen der signifikanten Zunahme des Citrullins im Serum bei Leberkranken nach peroraler Arginingabe werden besprochen. Der Befund ist wahrscheinlich dadurch zu deuten, daß die Umwandlung von Citrullin in Arginin im Harnstoffcyclus die limitierende Reaktion darstellt und bei Lebererkrankungen zuerst gestört ist. Die Art dieser Störung ist bisher ungelöst. Es wird diskutiert, ob diese Störung auf einem Mangel an ATP oder auf einer Aktivitätsminderung der Enzyme (argininsuccinatbindendes und argininsuccinatspaltendes Enzym) beruht.

LITERATURVERZEICHNIS

1. BEALE, R. N., D. CROFT: A Sensitive Method for the Colorimetric Determination of Urea.
J. Clin. Path. 14, 418-424 (1961)
2. BOLLMANN, J. L., F. C. MANN: The Effect of Removal of the Liver on the Formation of Ammonia.
J. Amer. Physiol. 92, 92-106 (1930)
3. BORNSTEIN, A.: Die Zersetzung von Eiweiß und Aminosäuren der Nahrung, gemessen am Ammoniak des Blutes.
Biochem. Z. 212, 137-148 (1929)
4. BORNSTEIN, A.: Über die Rolle von Leber und Darm bei der Desaminierung der Aminosäuren.
Biochem. Z. 214, 374-381 (1929)
5. BORNSTEIN, A., H. F. ROESE: Über Ammoniakbildung aus Aminosäuren in überlebenden Organen.
Biochem. Z. 212, 127-136 (1929)
6. BORSOOK, H., J. W. DUBNOFF: Conversion of Citrulline to Arginine in Kidney.
J. Biol. Chem. 141, 717-738 (1941)
7. BORSOOK, H., J. W. DUBNOFF: Ornithine-Catalyzed Urea Formation in Liver Homogenate.
J. Biol. Chem. 169, 461-462 (1947)
8. BROWN, G. J., P. P. COHEN: Comparative Biochemistry of Urea Synthesis.
Biochem. J. 75, 82-91 (1960)
9. CHOLOPOFF, A. D.: Herkunft des Ammoniaks und dessen Verteilung im Organismus nach Versuchen an angiotomierten Tieren.
Pflügers Arch. d. Physiol. 214, 320-326 (1926)
10. CLUTTON, R. F., R. SCHÖNHEIMER, D. RITTENBERG: Studies in Protein Metabolism: Conversion of Ornithine into Arginine in Mouse.
J. Biol. Chem. 132, 227-231 (1940)
11. COHEN, P. P., GRISOLIA, S.: The Intermediate Role of Carbamyl-1-Glutamic Acid in Citrulline Synthesis.
J. Biol. Chem. 174, 389-390 (1948)

12. COHEN, P.P., M.HAYANO: Urea Synthesis by Liver Homogenates.
J.Biol.Chem. 166, 251-259 (1946)
13. COHEN, P.P., M.HAYANO: The Conversion of Ornithine to Citrulline by Rat Liver Homogenates.
J.Biol.Chem. 170, 687-699 (1947)
14. COHEN, P.P., M.HAYANO: The Enzymatic Steps in Urea Synthesis.
J.Biol.Chem. 172, 405-415 (1948)
15. DAVISON, D.C., W.H.ELLIOT: Enzymic Reaction Between Arginine and Fumarate in Plant and Animal Tissues.
Nature 169, 313-314 (1952)
16. FOLIN, D., W.DENIS: Protein Metabolism from the Standpoint of Blood and Tissue Analysis. Second Paper. The Origin and Significance of the Ammonia in the Portal Blood.
J.Biol.Chem. 11, 161-167 (1912)
17. FORSTER, C.L., R.SCHÖNHEIMER, D.RITTENBERG: The Utilization of Ammonia for Amino Acid and Creatine Formation in Animals.
J.Biol.Chem. 127, 319-327 (1939)
18. GABUDZDA, G.J.Jr., G.B.PHILIPS, C.S.DAVIDSON: Reversible Toxic Manifestations in Patients with Cirrhosis of the Liver Given Cation-Exchange Resins.
New Engl.J.Med. 246, 124-130 (1952)
19. GALLAGHER, J.D., D.SELIGSON: Significance of Abnormally Low Blood Urea Levels.
New Engl.J.Med. 266, 492-495 (1962)
20. GEROK, W.: Quantitative Bestimmung der freien und gebundenen Aminosäuren im Blutserum durch Elutionschromatographie an Ionenaustauschern.
Klin.Wschr. 38, 1212-1215 (1960)
21. GEROK, W.: Quantitative Bestimmung der Aminosäuren im Serum bei Erkrankungen der Leber.
Dtsch.Med.Wschr. 88, 1188-1197 (1963)
22. GILBOE, D.D., J.N.WILLIAMS Jr.: Eluations of Sakaguchi Reaction for Quantitative Determination of Arginine.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 91, 535-536 (1956)

23. GRISOLIA, S., R.H.BURRIS, P.P.COHEN: Carbon Dioxide and Ammonia Fixation in the Biosynthesis of Citrulline.
J.Biol.Chem. 191, 203-209 (1951)
24. GRISOLIA, S., P.P.COHEN: Study of Citrulline Synthesis with Soluble Enzyme Preparations.
J.Biol.Chem. 191, 189-202 (1951)
25. GRISOLIA, S., P.P.COHEN: The Catalytic Role of Carbamyl Glutamate in Citrulline Biosynthesis.
J.Biol.Chem. 198, 561-571 (1952)
26. GRISOLIA, S., P.P.COHEN: Catalytic Role of Glutamate Derivatives in Citrulline Biosynthesis.
J.Biol.Chem. 204, 753-757 (1953)
27. GRISOLIA, S. H.J.GRADY, D.P.WALLACH: Biosynthetic and Structural Relationships of Compound X and Carbamyl Phosphate.
Biochem. et Biophys.Acta 17, 277-278 (1955)
28. GRISOLIA, S., S.B.KORITZ, P.P.COHEN: Dissociation of Respiration and Enzymatic Synthesis of Citrulline.
J.Biol.Chem. 191, 181-187 (1951)
29. GRISOLIA, S., R.O.MARSHALL: Enzymic Decomposition of the Active Intermediate in Citrulline Synthesis.
Biochem. et Biophys.Acta 14, 446-447 (1954)
30. GRISOLIA, S., R.O.MARSHALL: Recent Advances in Citrulline Biosynthesis. A Symposium on Amino Acid Metabolism.
Johns Hopkins Press, Baltimore, Md. 258-276 (1955)
31. GRISOLIA, S., D.P.WALLACH, H.J.GRADY: Carbamyl Transfer with Mammalian and Bacterial Enzymic Preparations.
Biochem. et Biophys.Acta 17, 150-151 (1955)
32. HALL, L.M., P.P.COHEN: Stimulation of Carbamyl Phosphate Synthesis by a Factor Isolated from Liver.
Federation Proc. 15, 266-267 (1956)
33. HANNIG, K.: Erfahrungen mit der quantitativen Aminosäurenbestimmung an Ionenaustauschersäulen und automatischer Registrierung der Ergebnisse.
Clin.Chem.Acta 4, 51-57 (1959)

34. JHONES, M.E., L.SPECTOR, F.LIPMANN: Carbamyl Phosphate, the Carbamyl Donor in Enzymatic Citrulline Synthesis.
J.Am.Chem.Soc. 77, 819-820 (1955)
35. KIRK, E.: Amino Acids and Ammonia Metabolism in Liver Diseases.
Acta Med.Scand. Suppl.71, 1-147 (1936)
36. KOLLER, S.: Statistische Auswertungsmethoden. B. Messungsreihen. Mittelwert und Streuung. C. Korrelationsbild, Korrelationskoeffizient.
Biochem.Taschenbuch v. H.M.von RAUEN, II.Teil, 961-963, 963-966 (1964)
37. KRONBERG, H.L., R.E.DAVIES: From the Medical Research Council Unit for Research in Cell Metabolism.
Phys.Rev. 35, 169-177 (1955)
38. KOSSEL, A., H.D.DAKIN: Über die Arginase.
Z.physiol.Chem. 41, 321-331 (1904)
39. KREBS, H.A.: Urea Formation in Mammalian Liver.
Biochem.J. 36, 758-767 (1942)
40. KREBS, H.A., H.HANSELEIT: Untersuchungen über die Harnstoffbildung im Tierkörper.
Z.Physiol.Chem. 210, 33-66 (1932)
41. MARTINI, G.A.: The Significance of Blood Ammonia for the Pathogenesis of Hepatic Coma.
Dtsch.med.Wschr. 86, 1351-1353 (1961)
42. MARTINI, G.A., E.A.PHEAR, B.RUEBNER, S.SHERLOCK: The Bacterial Content of the Small Intestine in Normal and Cirrhotic Subjects: Relation to Methionine Toxicity.
Clin.Sci. 16, 35-51 (1957)
43. MASON, M.F.: Observation on the Locus of Deamination.
Proc.Soc.Exp.Biol. 37, 111-113 (1937)
44. McLEAN, P., N.W.GURNEY: Effect of Adrenalectomy and of Growth Hormone on Enzymes Concerned with Urea Synthesis in Rat Liver.
Biochem.J. 87, 96-104 (1963)
45. MEISTER, A.: Biochemistry of the Amino Acids.
Academic Press, New York, 1957

46. MOORE, S., D.H.SPACKMANN, W.H.STEIN: Chromatography of Amino Acids on Sulfonated Polystyrene Resins.
Anal.Chem. 30, 1185-1190 (1958)
47. MOORE, S., W.H.STEIN: Chromatography of Amino Acids on Sulfonated Polystyrene Resins.
J.Biol.Chem. 192, 663-681 (1951)
48. NAJARIAN, J.S., J.JEW, R.L.DAKIN, H.A.HARPNER, C.M.QUINNELL, H.J.McCORKLE: Control of Ammonia Production in the Colon with Neomycin Enemas.
Arch.Surg. 78, 844-850 (1959)
49. NAJARIAN, J.S., H.A.HARPNER: Comparative Effect of Arginine and Monosodium Glutamate on Blood Ammonia.
Proc.Soc.Exp.Biol. 92, 560-563 (1956)
50. PARNAS, J.K., A.KLISIECKI: Experimentelle Untersuchungen über die Faktoren, welche den Ammoniakgehalt des kreisenden Blutes beeinflussen, und über die Lokalisation der Ammoniakbildung und des Ammoniakschwundes beim Kaninchen.
Biochem.Z. 173, 224-248 (1926)
51. PHEAR, E.A., B.RUEBNER, S.SHERLOCK, W.H.J.SUMMERSKILL: Methionine Toxicity in Liver Disease and its Prevention by Chlor-tetracycline.
Clin.Sci. 15, 93-117 (1956)
52. RATNER, S.: Urea Synthesis and Metabolism of Arginine and Citrulline.
Advances in Enzymol. 15, 319-387 (1954)
53. REICHARD, P., L.H.SMITH, G.HANSHOFF: Enzymic Synthesis of Ureidosuccinic Acid from Citrulline Via Compound X and Carbamyl Phosphate.
Acta Chem.Scand. 9, 1010-1012 (1955)
54. REYNOLDS, T.B., A.G.REDEKER, P.DAVIS: A Controlled Study of the Effects of L-Arginine on Hepatic Encephalopathy.
Amer.J.Med. 25, 359-367 (1958)
55. ROSSI, F., P.McLEAN: Effect of Carbon Tetrachloride Intoxication on the Activity of Enzymes of the Urea Cycle in the Liver of the Rat.
Nature 197, 1207-1208 (1963)

56. SCHÖNHEIMER, R.: The Dynamic State of Body Constituent.
Harvard U.P., Cambridge, Mass. (1942)
57. SHEMIN, D., D. RITTENBERG: On the Mechanism of the Conversion of Ornithine to Proline in Vivo; Intramolecular Nitrogen Shift.
J. Biol. Chem. 158, 71-76 (1944)
58. SMITH, M. E., M. D. GREENBERG: Characterization of an Enzyme reducing Proline-5-Carboxylate to Proline.
Nature 177, 1130 (1956)
59. SPACKMANN, D. H., W. H. STEIN, S. MOORE: Automatic Recording Apparatus for Use in the Chromatography of Amino Acids.
Anal. Chem. 30, 1190-1205 (1958)
60. STAHL, J.: Studies of Blood Ammonia in Liver Disease, its Diagnostic, Prognostic and Therapeutic Significance.
Ann. Intern. Med. 58, 1-24 (1963)
61. STETTIN, M. R.: Mechanism of Conversion of Ornithine into Proline and Glutamic Acid in Vivo.
J. Biol. Chem. 189, 499-507 (1951)
62. VAN CAULAERT, C., Ch. DEVILLER: Ammoniémie Experimentale après Ingestion de Chlorure d'Ammonium chez l'Homme à l'Etat Normal et Pathologique.
C. R. Soc. Biol. 111, 50-52 (1932)
63. VAN CAULAERT, C., Ch. DEVILLER, M. HALFF: Le Taux de l'Ammoniémie dans Certaines Affections Hépatiques.
C. R. Soc. Biol. 111, 735-736 (1932)
64. VAN CAULAERT, C., Ch. DEVILLER, J. HOFSTEIN: Epreuve de l'Ammoniémie Provoquée. Répartition de l'Ammoniaque dans le Sang et les Humeurs.
C. R. Soc. Biol. 111, 737-738 (1932)
65. VAN PILSUM, J. F., R. P. MARTIN, E. KITO, J. HESS: Determination of Creatine, Creatinine, Arginine, Guanidinoacetic Acid, Guanidine, Methyl-Guanidine in Biological Fluids.
J. Biol. Chem. 222, 225-236 (1956)

66. VILLAREAL, H., R. RONCES, V. SANCHEZ, H. ARCILA: Failure of L-Arginine to Protect in Ammonia Intoxication: Its Role in Urea Source. *J. Amer. Physiol.* 202, 364-366 (1962)
67. WALSER, M., L. J. BODENLOS: Urea Metabolism in Man. *J. Clin. Invest.* 38, 1617-1626 (1959)
68. WEIL-MALHERBE, H.: Significance of Glutamic Acid for the Metabolism of Nervous Tissue. *Physiol. Rev.* 30, 549-568 (1950)
69. WOLFE, S. J., B. B. FAST, J. M. STERMONT, C. S. DAVIDSON: Treatment of Hepatic Coma: Use of Certain Krebs' Urea Cycle Intermediates. (L-Arginine, DL-Ornithine). *J. Lab. Clin. Med.* 51, 672-689 (1958)

LEBENS LAUF

Am 24.12.1935 wurde ich als dritte Tochter des Ober-Ing. Carl Hochmiller und seiner Ehefrau Luise, geb. Klaiber, in Weinheim (Bergstraße) geboren.

Von 1942 bis 1947 besuchte ich die Volksschule in Mörlenbach (Odenwald) und bestand im Herbst 1947 die Aufnahmeprüfung am Realgymnasium für Mädchen in Bensheim (Bergstraße). An derselben Schule legte ich Ostern 1957 die Reifeprüfung ab. In der Folge immatrikulierte ich mich für das Studium der Medizin an den Universitäten Heidelberg und Marburg. Im Herbst 1959 bestand ich die ärztliche Vorprüfung und im Februar 1963 das medizinische Staatsexamen an der Philipp-Universität Marburg.

Von Mai bis November 1963 arbeitete ich als Doktorandin im Labor des Dozenten Herrn Dr. W. Gerok, Tübingen. Am 15. November 1963 begann ich die vorgeschriebene Medizinalassistentenzeit an der II. Medizinischen Universitäts-Klinik, Mainz. Nach 8 Monaten wechselte ich in das St. Vincenz- und Elisabeth-Hospital über.

Am 1.8.1965 kehrte ich nach 5 1/2 Monaten Chirurgie, 5 Monaten Gynäkologie und 1 Monat Labor zur Universitäts-Klinik zurück.

Vom 1.8.1965 bis 30.11.1965 war ich als Medizinal-Assistentin in der Universitäts-Kinderklinik angestellt. Anfang Dezember 1965 reichte ich meine Approbation in Wiesbaden ein, die mir rückwirkend zum 15.11. 1965 erteilt wurde.

Zum 1.1.1966 nahm ich eine Vollassistentenstelle an der Universitäts-Kinderklinik, Mainz an, die ich leider am 30.3.1966 aufgeben mußte wegen schwerer Erkrankung und Pflegebedürftigkeit meiner Mutter.

